

Molekulare Diagnostik und Differenzialtherapie des fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms mit Treibermutationen

VNR: 2760602019282270007

Dr. med. Jan A. Stratmann, Dr. med. Verena Tischler, Dr. rer. physiol Melanie Demes, Prof. Dr. med. Hubert Serve, Prof. Dr. med. Peter Wild, Dr. med. Martin Sebastian

Vorwort

Wer hätte vor 20 Jahren gedacht, dass das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom (NSCLC) 2019 als Vorreiter in der personalisierten Tumortherapie gelten wird? 2002 zeigte der Vergleich von vier unterschiedlichen Kombinationschemotherapien völlig identische und unbefriedigende Effektivitätsdaten. Der großen Ernüchterung folgte die Neuausrichtung der klinischen Forschung, nicht zuletzt getriggert durch die Erstbeschreibung der EGFR-Mutation und der damit einhergehenden Beobachtung, dass Tumore mit dieser Mutation ein erstaunliches Ansprechen auf eine zielgerichtete Therapie mit EGFR-Tyrosinkinaseinhibitoren aufwiesen.

In der Folge wurden die Tumore genetisch sequenziert und gerade beim Adenokarzinom der Lunge wurden viele sogenannte Treibermutationen entdeckt. Zudem gelang es rasch, zielgerichtete Medikamente für die unterschiedlichen genetischen Veränderungen der Tumore zu entwickeln. Mit wenigen Ausnahmen konnten diese zielgerichteten Therapien in klinischen Studien bei den meisten Patienten ein rasches und auch länger andauerndes Therapieansprechen ermöglichen. Für Patienten mit ROS1- oder ALK-positiven Tumoren konnte durch die Implementierung der zielgerichteten Substanzen in den Therapiealgorithmus das Gesamtüberleben um mehrere Jahre verlängert werden. Die zielgerichtete Therapie hat in diesen Patientengruppen mit Nachweis einer Treibermutation längst die Chemotherapie aus den ersten Therapielinien verdrängt. Dies ist begründet durch die wesentlich höhere Effektivität in Kombination mit einem deutlich



Foto: © mauritius-images/alamy

günstigeren Nebenwirkungsprofil. Derzeit können etwa 15–20 % der Patienten mit einem metastasierten NSCLC von dieser zielgerichteten Therapie profitieren. Voraussetzung ist allerdings die molekulare Testung der Tumore in der metastasierten Krankheitssituation vor Beginn einer Erstlinientherapie. Dies erfolgt jedoch weder flächendeckend noch umfassend. In einer großen deutschen Registerstudie, die repräsentativ Daten zu Diagnostik und Therapie des NSCLC prospektiv erhebt, werden nur 75 % der Patienten für die Merkmale ALK-Translokation und EGFR-Mutation getestet. Andere Treibermutation wie BRAF-V600E oder ROS1 werden nicht einmal

bei zwei von drei Patienten getestet. Nicht getestete Patienten erhalten keine zielgerichtete Therapie und somit die Chance, zum Teil mehrere Jahre länger zu überleben.

Der folgende Beitrag vermittelt den aktuellen Stand der Diagnostik und Therapie der molekular alterierten NSCLC im Stadium IV aus der Sicht der Molekularpathologie und der Thoraxonkologie. Wir hoffen damit, Verständnis für die dringende Notwendigkeit der molekularen Testung und der Umsetzung der Testresultate in eine molekular zielgerichtete Therapie zu erreichen.

Dr. med. Martin Sebastian

Einleitung

Das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (NSCLC) ist mit 75 % die häufigste histologische Untergruppe aller Bronchialkarzinome. Über die Hälfte der Erkrankten werden in einem metastasierten und damit – einzelne Ausnahmen herausgenommen – nicht heilbaren Stadium diagnostiziert. Noch bis vor 15 Jahren war die Chemotherapie das alleinige Fundament der palliativen Therapie mit dem Ziel, ein Fortschreiten der Erkrankung für einen limitierten Zeitraum zu begrenzen. Dass Agentien und deren Wirksamkeit limitiert waren, kann man sich an der Arbeit von Schiller et al. aus dem Jahre 2002 vergegenwärtigen: Die randomisierte Verteilung auf Platin-basierte Chemotherapien mit unterschiedlichen Kombinationspartnern zeigte allseits ein medianes Überleben (overall survival, OS) von lediglich 7.0–9.5 Monaten ohne klinisch relevanten (und signifikanten) Unterschied zwischen den Studiengruppen [1]. Im selben Zeitraum wurde die Entwicklung einer neuen Medikamentenklasse, den sogenannten epidermal growth factor receptor (EGFR)-Tyrosinkinaseinhibito-

ren (TKI) vorangetrieben, von denen man sich bei epithelialen Tumoren, die regelhaft eine Überexpression von EGFR auf der Oberfläche aufwiesen, eine durchgreifende Wirksamkeit erhoffte [2]. Die Wirksamkeit beim NSCLC zeigte sich ebenfalls insgesamt begrenzt. Auf der Suche nach einem prädiktivem Biomarker für EGFR TKI Gefitinib kristallisierte sich aus den ersten prospektiven Studien heraus, dass insbesondere die Subgruppe der nie rauchenden jüngeren Frauen mit Adenokarzinom–Histologie von einer solchen zielgerichteten Therapie profitierten [3]. Es dauerte weitere zwei Jahre, bis das Vorliegen von aktivierenden Mutationen im EGFR-Gen als positiv-prädiktiver Marker für den Einsatz von EGFR TKI erkannt wurde [4]. Dies kann als Startschuss für die Identifizierung von Treibermutationen und begleitende Entwicklung spezifischer Inhibitoren beim NSCLC bezeichnet werden. In Folge wurden weitere Treibermutationen, also Mutationen in (Proto-)Onkogenen, die ein Wachstum der jeweiligen Tumorentität vorantreiben, identifiziert: Der ALK-Translokation folgte das ROS1-Rearrangement und kürzlich die BRAF-V600E-Mutation mit bereits zur

Verfügung stehenden zugelassenen Therapieoptionen. Nahezu alle zielgerichteten Therapien zeigen gegenüber einer Chemotherapie ein besseres Ansprechen, eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens sowie eine Verlängerung des Gesamtüberlebens bei gleichzeitig verbesserter Lebensqualität (QoL, quality of life) und geringerem Toxizitätsniveau. Voraussetzung für den Einsatz einer zielgerichteten Therapie ist der Nachweis der Zielstruktur im Tumorgewebe im Sinne einer genetischen Veränderung, für die je nach Erfordernis verschiedene zum Teil redundante oder komplementäre diagnostische Verfahren (und auch Materialien) zur Verfügung stehen.

Die deutschlandweite prospektive Registerstudie „CRISP“ zur Evaluation der genetischen Testung bestätigt derzeit die epidemiologische Verteilung von Treibermutationen im Gesamtkollektiv.

Insbesondere bei jüngeren Frauen, die nie geraucht haben, findet sich eine solche Treibermutation in bis zu 50 % der Fälle. Die Wahrscheinlichkeit nimmt mit zunehmendem Rauchverhalten ab, was jedoch analog der S3-Leitlinie „Lungenkarzinom“ nicht von einer molekularen Testung bei

Tabelle 1: Übersicht über die Treibermutationen beim NSCLC mit klinisch-therapeutischer Implikation

Gen	Testing	Alterationen (Beispiele)	Frequenz	Mögliche Therapeutika
ALK	Fusionen, Mutationen	EML4 Fusionen, KIF5B Fusionen	4–6 %	Crizotinib, Alectinib, Ceritinib, Lorlatinib, Brigatinib
BRAF	Mutation Exon 11, 15	V600E	2 %	Dabrafenib, Vemurafenib, Dasatinib
EGFR	Mutation Exon 18, 19, 20, 21	Deletionen im Exon 19, L858R, [...]	10–15 %	Erlotinib, Gefitinib, Osimertinib, Afatinib [...]
ROS1	Fusionen, Mutationen	Multiple Fusionspartner	1–2 %	Crizotinib, Cabozantinib, Ponatinib
FGFR1–4	Mutation Exon 4, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 14, 15 [...]	Amplifikationen, Mutationen	1 %	Ertafinib, Dovitinib
HER2	Amplifikation, Mutation	Exon 20 Insertionen	<5 %	Afatinib, Trastuzumab, Pertuzumab
KRAS	Mutation Exon 2, 3, 4	Aminosäure 12, 13 Mutationen	21 %	keine (bislang nur experimentelle Therapieansätze)
MET	Amplifikation		3–21 %	Capmatinib, Crizotinib
MET	Mutation Exon 14, 16, 17, 18, 19	Exon 14 Mutation	<5 %	Tivantinib, Capmatinib
NTRK1–3	Fusionen	SQSTM1 Fusion, CD74 Fusion	3 %	Entrectinib, Larotrectinib
RET	Fusionen	Multiple Fusionspartner	1–2 %	Vendetanib, Sunitinib, Sorafenib, Vantedanib, Cabozantinib, Ponatinib

grau hinterlegt: Alterationen mit zugelassener Therapieoption; weiß hinterlegt: Alterationen mit potenziellem off-label Einsatz.

Rauchern abhalten darf! Auch hier sind Treibermutationen möglich. Beim NSCLC mit plattenepithelialer Histologie dagegen wird eine Testung nur bis zu 15 pack years (kumulatives Rauchen von 15 x 365 Zigaretenschachteln) empfohlen, bei stärkerem Rauchverhalten ist der Nachweis einer Treibermutation eine Rarität [6].

Die Entdeckung von neuen Treibermutationen und die korrespondierende Entwicklung von zielgerichteten Inhibitoren sind ein rasch voranschreitendes Feld von zunehmender Komplexität. Über den aktuellen Stand der Therapie bezüglich der bekannten Treibermutationen sowie über die Grundlagen der dazu notwendigen Diagnostik berichten wir im Folgenden.

Moderne molekulare Diagnostik im Zeitalter der onkologischen Präzisionsmedizin

Die Voraussetzung für eine molekulare Stratifizierung und folglich valide Therapieempfehlung ist die histologische Klassifikation des Lungenkarzinoms in ein NSCLC sowie eine weitere Subtypisierung. Beispielsweise fortgeschrittene oder metastasierte Adenokarzinome unter Berücksichtigung der oben genannten Epidemiologie weisen vermehrt genetische Alteration in den Genen *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *MET*, *RET*, *NTRK* sowie *KRAS*, *NRG1*, *HER2* und *FGFR1–4* auf. Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Häufigkeiten genomischer Alterationen bei nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen mit klinisch-therapeutischer Implikation. Aufgrund der niedrigen Frequenz auch klinisch-therapeutisch bedeutsamer Varianten ist eine parallele (im Vergleich zur sequenziellen) molekulare Testung zur Erfassung dieser Varianten vorteilhaft und auch an kleinen Probenmengen (z. B. zytologischen Proben) gut durchführbar [7].

In der S3-Leitlinie ist die Testung eines metastasierten NSCLC auf folgende Alterationen festgeschrieben: Mutationen in den Genen *EGFR* (Exone 18–21) und *BRAF* (Exon 15, Codon 600) sowie strukturelle Umlagerungen der Gene *ALK* und *ROS1*.

Aufgrund der klinischen Implikation für eine Immuntherapie, welche nicht Fokus dieses Artikels ist, wird zusätzlich eine PD-L1 Immunhistochemie durchgeführt [6].

Die Molekularpathologie bietet ein breites Methodenspektrum zum Nachweis dieser genetischen Alterationen. Derzeit gibt es noch kein einheitlich etabliertes laborübergreifendes Standardverfahren. Nach konsensusbasierten Statements der „College of American Pathologists“ (CAP)/ „International Association for the Study of Lung Cancer“ (IASLC) [8]/ „Association for Molecular Pathology“ (AMP), der S3- und „National Comprehensive Cancer Network“ (NCCN)-Leitlinie (http://oncolife.com.ua/doc/nccn/NonSmall_Cell_Lung_Cancer.pdf) sowie nach Empfehlungen der „Deutschen Gesellschaft für Pathologie“ (DGP) soll eine Methodik eingesetzt werden, die

- a) innerhalb von zehn Arbeitstagen zu einer Diagnose kommt,
- b) die sensitiv genug ist (Mutationen sollen auch im Gewebeareal mit nur 10 % Tumoranteil nachweisbar sein) und
- c) dem Thema Qualitätssicherung Rechnung trägt.

Eine weitere Herausforderung ist, dass die eingesetzte Methodik auch an zytologischen Proben und kleinen tumorhaltigen Biopsien (> 80 % in der Routinediagnostik) mit nur wenigen Tumorzellen valide Ergebnisse liefern sollte. Die manuelle oder laserunterstützte Mikrodissektion ermöglicht eine Anreicherung des Tumorzellgehaltes und kann beispielsweise Nekrosen sowie inflammatorische Zellen aussparen. In Abhängigkeit von der Fragestellung kann auch eine molekulare Analyse prädiktiver Marker am Blut („Liquid Biopsy“) durchgeführt werden [7, 9–11].

Um der Präzisionsmedizin gerecht zu werden, wird ein sensitiver Mutationsnachweis gefordert. Ein Tumorzellgehalt von 10–20 % darf nicht unterschritten werden [6]. Aktuell sind Empfehlungen hinsichtlich einer bestimmten anzuwendenden Methode noch nicht möglich. Methodenunabhängig jedoch müssen die gesamten Untersuchungsprozesse entsprechend den Anforderungen der QuIP GmbH (Qualitätssicherungs-Initiative Pathologie) validiert sein. Die unabdingbare erfolgreiche Teilnahme an externen Ringversuchen bei der QuIP GmbH oder EQA (External Quality Assessment Scheme der European Society of Pathologists) dient der Qualitätssicherung.

Als genomische Veränderungen gelten Punktmutationen, Insertionen und Deletionen sowie strukturelle Umlagerungen im Leseraster (Translokationen) und Veränderungen der Kopienzahl von Genen (siehe Abbildung 1, 2E).

Die Deutsche Gesellschaft für Pathologie (AG Thorakale Onkologie) empfiehlt laut der S3-Leitlinie [6] die Fluoreszenz-in-situ Hybridisierung (FISH), immunhistochemische (IHC) Nachweise, Sequenzierverfahren oder auch quantitative PCR-Methoden zur Untersuchung prädiktiver Marker (siehe Abbildung 2).

Die Auswertung der Sanger-Sequenzierung erfolgt über den Vergleich der Fluoreszenzintensitäten der an einer bestimmten Position im Gen aufgefundenen Nukleotide im Vergleich zur Referenzsequenz. Hierbei können Punktmutationen und Insertionen/Deletionen detektiert

Abkürzungsverzeichnis	
FISH	Fluoreszenz-in-situ Hybridisierung
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
MAP	Mitogen-aktiviertes Protein
NSCLC	nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
OS	overall survival
PCR	Polymerase-Kettenreaktion oder ein molekularbiologisches Verfahren PCR-Schema oder ein Therapieschema der chronisch lymphatischen Leukämie-Fachgebiete (CCL)
PFS	progressionsfreies Überleben
QoL	quality of life
TKI	Tyrosinkinaseinhibitoren
ZNS	Zentralnervensystem

Punktmutationen und InDels		Strukturelle Umlagerungen	Kopiezahlveränderungen
Normal	ATCGATCGATCG TAGCTAGCTAGC	Normal	Normal
Punktmutation (Substitution)	ATCGA A CGATCG TAGCT T GCTAGC	Translokation	Amplifikation
Insertion	ATCGAT AT CGATCG TAGCT A TAGCTAGC		Deletion
Deletion	ATCGAT- AT CG TAGCTA- TA GC		
Inversion	ATCG CG ATATCG TAG CG TATAGC		
Indels Insertion/Deletion Beispiele <i>EGFR, BRAF, KRAS</i>		Beispiele <i>ALK, ROS1, RET</i>	Beispiele <i>EGFR, MET, HER2</i>

Abb. 1: Übersicht der möglichen genomischen Veränderungen in Lungenkarziomen (modifiziert nach [12]).

werden. Für die Mutationsanalyse von nur wenigen Tumorzellverbänden ist die Sanger-Sequenzierung nicht geeignet, da eine Sensitivität von 10 % nicht erreicht wird. In der Parallelsequenzierung (Next-Generation-Sequencing, NGS) werden viele einzelne Sequenzen nebeneinander analysiert. Somit können auch kleine Anteile an mutierten Tumorallelen nachgewiesen werden. Ergebnisse diverser Studien zeigen eine höhere Sensitivität der NGS-Methode und quantitativer PCRs im Vergleich zur klassischen Sanger-Sequenzierung. Bei der Auswertung der NGS-Resultate werden zunächst die Rohdaten im fastq-Datei-Format im Vergleich zu einem definierten Referenzgenom (z. B. hg19/Grch37 oder Grch38) abgeglichen und die Millionen an sequenzierten, meist ca. 100 bis 200 Nukleotide langen Nukleotidsequenzen („Reads“) einer bestimmten Position zugeordnet („Alignment“) (Abbildung 2E).

Im nächsten Schritt wird eine Annotation der Varianten im Vergleich zum Referenzgenom vorgenommen („Variant calling“) und in einer Varianten-Datei (variant call file, vcf-Format) abgelegt [12]. Alle diese Schritte verlaufen üblicherweise automatisiert auf einer bioinformatischen Plattform, um stets mit den gleichen Algorithmen eine konstante Qualität und Nachvollziehbarkeit der erhobenen Datensätze zu gewährleisten und zu dokumentieren. Nach eingehender Prüfung der Qualität

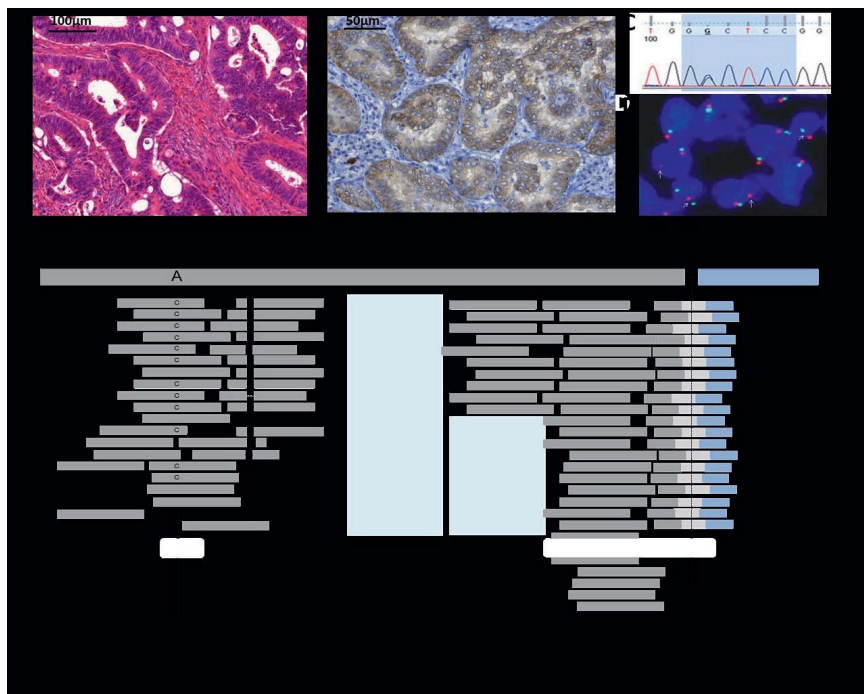


Abb. 2: (modifiziert nach [12])

- A) Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) eines pulmonalen Adenokarzinoms.
- B) ALK-Proteinexpression durch immunhistochemische Verfahren (DSF3-Antikörper, Optiview, Ventana).
- C) Sanger-Sequenzierung (Einzelgenanalyse) mit Nachweis einer Punktmutation p.G719A (c.2156G>C) im Gen EGFR Exon 18.
- D) Strukturelle Umlagerung im ALK-Gen mittels FISH nachweisbar.
- E) Parallelsequenzierung mittels Next-Generation-Sequencing (NGS), allgemeine Übersicht über die möglichen Alterationen. Die grauen Balken markieren die Reads. Im Bereich struktureller Umlagerungen sind die Bruchpunktregion in hellgrau dargestellt.

und Plausibilität der gefundenen Varianten können diese nun klinisch-biologisch interpretiert werden. Für die zuverlässige Detektion von Varianten mit einer Allelfrequenz von 5 % ist üblicherweise eine Sequenzieriefe (Abdeckung der Genregion durch die einzelnen Reads, „Coverage“) von einigen 100x ausreichend, für Allelfrequenzen von <1 %, z. B. bei der Liquid Biopsy, ist eine Coverage von 1000x notwendig. Zur Interpretation der gefundenen Varianten zieht der Befunder wissenschaftlich etablierte Datenbanken heran, wie z. B. den Catalogue of somatic mutations in Cancer (COSMIC, <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>), ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), ein öffentlich zugängliches Verzeichnis der Interpretation klinischer Varianten, oder www.mycancergenome.org, eine Datenbank klinisch relevanter Mutationen mit Hinweisen zu Therapie und klinischen Studien. Klinisch-biologisch in ihrer Funktion gesicherte Genvarianten können direkt im molekularpathologischen Befund berichtet werden, ggf. mit Verweis auf Therapieoptionen bzw. Festlegung der Therapie im klinisch-onkologischen Kontext, z. B. im molekularen oder Organtumorboard, je nach lokalen Gepflogenheiten. Komplexe genomische Veränderungen, wie z. B. ein Nachweis von therapeutisch relevanten Treibermutationen und mit Resistenz gegenüber einer Therapie vergesellschafteten Alterationen, erfordern eine genaue Analyse der aktuellen Literatur. Seltene Varianten mit unklarer klinischer Signifikanz, sogenannte VUS („variants of unknown significance“) haben meist keine unmittelbare klinische Relevanz, sollten aber dokumentiert werden, falls diese nach neu gewonnenen Erkenntnissen zu einem späteren Zeitpunkt klinisch relevant werden. Im Rahmen von ethisch begutachteten und gutgeheißenen Studien, wie z. B. dem NCT-Masterprogramm des Deutschen Konsortiums für Translationale Krebsforschung (DKTK, Internet: www.nct-heidelberg.de/forschung/nct-master.html) oder dem nationalen Netzwerk Genomische Medizin (nNGM, Internet: www.nngm.de), werden alle Varianten, auch die seltenen, systematisch in Datenbanken erfasst, an-

hand neuester Literatur im klinischen Kontext hinsichtlich Therapierelevanz interpretiert und für zukünftige Studienvorhaben zugänglich gemacht. Es ist zu erwarten, dass im Zeitalter von künstlicher Intelligenz und der Möglichkeit, große Datensätze differenziert zu analysieren, solche Programme entscheidend zu neuem Erkenntnisgewinn und zu neuen onkologischen Therapien beitragen können. Über den aktuellen therapeutischen Standard klinisch-relevanter Mutationen berichten wir in den folgenden Absätzen.

EGFR-Mutationen

Die Überlegenheit der zielgerichteten Therapie mit den EGFR-TKI der ersten und zweiten Generation Gefitinib, Erlotinib und Afatinib konnte in zahlreichen Studien eindrucksvoll demonstriert werden. Sowohl Ansprechraten und progressionsfreies Überleben (PFS) als auch QoL waren unter der jeweiligen TKI-Therapie in der Erstliniensituation gegenüber einer platinhaltigen Standard-Chemotherapie signifikant und klinisch relevant verbessert. Aufgrund der hohen Rate an Postprogressionstherapien mit EGFR-TKI im Sinne eines Cross-Overs von Chemotherapie auf TKI konnte auf Einzelstudieniveau jedoch nie ein Überlebensvorteil bestätigt werden. Allerdings zeigte sich in der finalen Auswertung der OPTIMAL Studie (Erlotinib versus Platinbasierte Chemotherapie) ein signifikanter Überlebensvorteil (OS, overall survival) für die Patienten, die jemals einen EGFR-TKI erhalten hatten, gegenüber den lediglich konventionell zytotoxisch behandelten Patienten [13], insbesondere bei der häufigen Exon 19 Deletion in EGFR [14].

Hinsichtlich der Frage nach dem effektivsten EGFR-TKI in der Erstlinie konnte Dacomitinib, ein weiterer Zweitgenerations EGFR-TKI, in einem head-to-head Vergleich als erster Inhibitor einen signifikanten PFS- und OS-Vorteil gegenüber Gefitinib verzeichnen [15, 16]. Allerdings zeigte sich auch eine deutlich erhöhte Toxizität zu Ungunsten von Dacomitinib. Osimertinib, der erste zugelassene Drittgenerations-EGFR-TKI, zeigte in der FLAURA-Studie im Vergleich zu Gefitinib oder Erlotinib

ein deutlich verbessertes PFS bei geringerer Toxizität [17]. Präliminäre Daten weisen auf einen OS-Vorteil hin, die abschließende Bewertung zum Einsatz in der Erstlinie kann jedoch erst nach Erhalt der vergleichenden Überlebensdaten erfolgen. Das günstige Nebenwirkungsprofil ist zudem für Patienten mit schlechterem Allgemeinzustand (ECOG-Status)** vor (Erstlinien-)Therapieeinleitung interessant, die gleichsinnig gut von einer Osimertinib-Therapie profitieren [18]. Aktuell wird in den deutschen und europäischen Leitlinien noch keine endgültige Empfehlung zur Auswahl des Erstlinien-TKI bei aktivierenden EGFR-Mutationen gegeben, die amerikanischen NCCN-Leitlinien präferieren bereits Osimertinib.

Die 2016 seitens der EMA (European Medicines Agency) zugelassene Kombination von Erlotinib in Kombination mit dem anti-VEGF-Antikörper Bevacizumab verlängert das progressionsfreie Überleben, allerdings ohne nennenswerten Einfluss auf das Gesamtüberleben. Die Kombinationstherapie weist eine deutlich vermehrte Toxizität auf und spielt im praktischen Alltag eine untergeordnete Rolle [19, 20].

Hinsichtlich Toxizität haben mehr oder weniger alle EGFR-TKI Nebenwirkungen an den „inneren“ und „äußeren“ Oberflächen gemein. Durch gleichsinnige Blockade des Wildtyp-EGF-Rezeptors kommt es regelhaft zu makulopapulösen Hautausschlägen, Diarrhoe, im weiteren Verlauf Nagelbett- und Haarveränderungen, in schweren Fällen sind auch die Lunge oder Hornhaut des Auges betroffen.

Die Verträglichkeit der Therapie kann durch proaktive Maßnahmen wie eine konsequente Hautpflege, Sonnenschutz und eine frühzeitige Therapie der Diarrhoe deutlich optimiert werden. Zum Nebenwirkungsmanagement gibt es publizierte Therapieempfehlungen.

In klinischen Studien war insgesamt eine Therapieunterbrechung und/oder Dosisreduktion in bis zu 10 % der Patienten erforderlich. Die deutlich verminderte Inhibition des Wildtyp-EGF-Rezeptors durch den Drittgenerations-TKI-Osimertinib trägt wesentlich zur Toxizitätseinsparung bei.

* Griesinger F, Hipper A, Fleitz A, Sahlmann J. CRISP – clinical research platform into molecular testing, treatment and outcome of non-small cell lung cancer: Interim analysis 2016, 2016

** Der Performance-Status der Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) beschreibt den physischen Zustand von Krebspatienten und dient der Quantifizierung des allgemeinen Wohlbefindens und der Einschränkungen bei Aktivitäten des alltäglichen Lebens. Die Skala reicht von 0 (keine Einschränkungen) bis 5 (tot).

Resistenzentwicklung bei (EGFR) Tyrosinkinaseinhibitoren

Ein Krankheitsprogress unter palliativer zielgerichteter Therapie ist nach einem spezifischen Zeitraum für den jeweiligen TKI obligat. Bei den Erst- und Zweitgenerations-EGFR-TKI ist dies nach ungefähr 8–14 Monaten, bei dem Drittgenerations-EGFR-TKI Osimertinib nach 13–22 Monaten der Fall. Es liegt eine erworbene Resistenz gegen den angewandten TKI vor. Der Mechanismus der Resistenzbildung ist nicht einheitlich und umfasst erworbene (oder primär vorhandene und expandierende Klone mit) Resistenzmutationen und/oder die Etablierung eines sogenannten Bypasspathways, also die evolutionäre Selektion anderer Treibermechanismen. Die Identifizierung des jeweiligen Resistenzmechanismus ist wichtig, da dieser direkte klinisch-therapeutische Implikationen haben kann. Als Materialquelle stehen dem Kliniker erneut die „Liquid Biopsy“ oder die Gewebsbiopsie zur Verfügung.

Am Beispiel der Erst- und Zweitgenerations-EGFR-TKI (Erlotinib, Gefitinib, Afatinib) ist die EGFR p.T790M-Mutation in Exon 20 mit ca. 60 % aller Fälle die häufigste Resistenzmutation. Die Sensitivität eines Nachweises der p.T790M Mutation

kann durch die sequenzielle Kombination verschiedener Tumorproben (Gewebe und Liquid Biopsy) erhöht werden. In dieser Situation ist Osimertinib der einzig zur Verfügung stehende mutationsspezifische TKI, der gegenüber einer platinhaltigen Kombinations-Chemotherapie eine deutliche Überlegenheit in der Zweitlinie nachweist [21].

Die 40 % ohne EGFR p.T790M assoziierten Resistenzen sind heterogen, in einigen Fällen kann keine Treibermutation gefunden werden, andere Mechanismen wie die Amplifikation von MET oder HER2 sowie Treibermutationen im PIK3CA- und KRAS-Gen sind beschrieben. In seltenen Fällen kann auch die Transformation in ein kleinzelliges Lungenkarzinom beobachtet werden, insbesondere bei Patienten, deren Tumor eine TP53-Komutation aufweist. Die Resistenzmechanismen unter einer Therapie mit Osimertinib sind ebenfalls heterogen, insbesondere finden sich weitere Exon 20-Punktmutationen wie p.C797S, die nicht oder nur sehr kurz auf eine erneute Therapie mit Erstgenerations-TKI ansprechen. Insgesamt sind multiple parallele Resistenzmechanismen eher die Regel als die Ausnahme [22, 23]. Trotzdem ist der Versuch der Aufarbeitung des Resistenzmechanismus wichtig, da insbesondere solche

Patienten mit nachgewiesenem Bypasspathway erneut von einer zielgerichteten Therapie profitieren können. Die zunehmende Heterogenität der neoplastischen Subklone im Verlauf der Therapie macht das jeweilige Therapieansprechen jedoch zunehmend unwahrscheinlicher, das PFS sukzessive kürzer. Durch konsequentes Screenen auf Resistenzmechanismen und Anpassen der Systemtherapie sind jedoch Überlebenszeiten von > 40 Monaten bei diesen Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung möglich [18].

Ergibt sich kein Hinweis auf die erneute Möglichkeit einer zielgerichteten Therapie muss auf eine zytotoxische Chemotherapie zurückgegriffen werden. Hier hat die Platin-haltige Kombinationstherapie weiterhin ihren festen Stellenwert. Die Immuntherapie spielt bei den meisten treiber-mutierten NSCLC – so auch bei den EGFR-mutierten – aufgrund der limitierten Wirksamkeit bisher eine untergeordnete Rolle; möglicherweise kann die Kombination von Chemotherapie, Immuntherapie und Bevacizumab eine Option für diese Patienten darstellen [24]. Eine solche Kombinationstherapie wurde jüngst von der EMA nach Ausschöpfen der zielgerichteten Optionen mit dem Antikörper Atezolizumab zugelassen.

ALK-Translokation

ALK-Translokationen finden sich bei 3–4 % aller Patienten mit nicht-Plattenepithelkarzinomen. Bei Plattenepithelkarzinomen ist sie deutlich seltener zu finden. Die NGS-basierte Technik ist in der Lage, die verschiedenen, zum Teil mit einem unterschiedlichen Therapieansprechen behafteten Translokationsvarianten zu identifizieren. An ALK-Inhibitoren finden sich derzeit – ähnlich den EGFR TKI – drei Generationen.

In der Erstlinie sind insgesamt drei Erst- bzw. Zweitgenerations-TKI zugelassen: Der Pionier Crizotinib, ein Erstgenerations-ALK-Inhibitor, zeigt gegenüber der Chemotherapie eine eindeutige Überlegenheit hinsichtlich PFS, OS (nach Bereinigung des crossover Effektes) und QoL [25, 26]. Folgerichtig galt Crizotinib bis zur Zulassung der Zweitgenerations-TKI Ceritinib und Alectinib als Goldstandard in der Erstlinientherapie der ALK-translozierten NSCLC.

Alectinib zeigte dann in zwei Phase-III-Studien im direkten Vergleich zu Crizotinib eine hochsignifikante und klinisch relevante Verlängerung des PFS [27, 28], insbesondere zurückzuführen auf die deutlich bessere ZNS-Wirksamkeit und die damit verbundene intrakranielle Krankheitskontrolle mit einem Gesamt-zwölf-Monats-PFS von 70 %. Damit hat Alectinib den Erstgenerations-ALK-TKI Crizotinib abgelöst und gilt derzeit als Erstliniengoldstandard. Alternativ kann auch Ceritinib eingesetzt werden, einen direkten Vergleich gegen Crizotinib gibt es allerdings nicht.

Nach Krankheitsprogression stehen weitere ALK-Inhibitoren in der Therapiesequenz zur Verfügung. Ein konsequentes Testen auf Resistenzmechanismen ist – im Vergleich zu den EGFR-mutierten NSCLC – bisher in der Routine weniger etabliert, es muss aber davon ausgegangen werden, dass dieses eine solche zunehmende Bedeutung in der sequenziellen Differenzialtherapie einnehmen wird. Da mit den bereits zugelassenen und kommenden ALK-Inhibitoren wirksame Therapieoptionen mit unterschiedlichen in vitro-Aktivitäten, die unterschiedlichen Resistenzmutationen betreffend, zur Verfügung stehen [29, 30], kann durch Identifizierung der jeweiligen Alteration eine gezieltere Differenzialtherapie erfolgen, durch die Überlebenszeiten um vier Jahre und mehr erzielt werden können.

Nach Ausschöpfen aller zielgerichteter Therapieoptionen sollte auf eine konventionelle Chemotherapie zurückgegriffen werden. Auch hier spielt die Platin-haltige Doublette, vorzugsweise mit Pemetrexed als Kombinationspartner, eine wichtige Rolle. Bei den ALK-Inhibitoren spielt vor allem die Hepatotoxizität eine dosislimitierende Rolle. Weitere Nebenwirkungen mit Alltagsrelevanz sind das Vorkommen von Flüssigkeitsansammlungen und Visusstörungen.

ROS1-Rearrangement

Die dritte Entität mit zugelassener zielgerichteter Therapieoption ist das NSCLC mit ROS1-Umlagerung. Bei Vorliegen dieser genetischen Alteration kann ein Gesamtüberleben von über vier Jahren erzielt werden. Diese Treiberänderung findet sich ebenfalls gehäuft bei Adenokarzinomen

und jüngeren Patienten, die nicht oder nur wenig geraucht haben; die Häufigkeit liegt bei etwa 1 %. Mit Crizotinib wurde eine zielgerichtete Therapie zugelassen, die eine hohe Ansprechwahrscheinlichkeit besitzt und ein auch für zielgerichtete Therapien langes progressionsfreies Überleben ermöglicht [30]. Eine randomisierte Studie, die den Effekt der zielgerichteten Therapie mit einer Chemotherapie vergleicht, existiert nicht. Aufgrund der besseren Verträglichkeit und wohl auch besseren Effektivität empfehlen die nationalen und internationalen Leitlinien den Einsatz von Crizotinib in der Erstliniensituation. Ceritinib, Lorlatinib und Cabozantinib sind mögliche TKI in der Zweitliniensituation [31–33], sind allerdings weder (in dieser Indikation) zugelassen noch ist eine solche mittelfristig zu erwarten. Eine wirksame Option nach Versagen der zielgerichteten Therapie ist auch hier eine Pemetrexed-haltige Chemotherapie.

BRAF

Bei ungefähr 1–2 % der NSCLC-Patienten liegt eine BRAF p.V600E Mutation vor, die eine Aktivierung des entsprechenden MAP-Signalweges (RAS-RAF-MEK-ERK – Signalkaskade) vermittelt. Mit der Kombination Dabrafenib – einem BRAF-Inhibitor und Trametinib – einem MEK-Inhibitor, welcher die im Signalweg nachgeschalteten Mitogen-aktivierten Kinasen 1 und 2 (MEK1, MEK2) inhibiert – gibt es seit April 2017 eine wirksame zugelassene TKI-Therapie für diese seltene Alteration. Für die Zulassung entscheidend war die Phase-

II-Studie zur Wirkstoffkombination von Dabrafenib und Trametinib, die bei vorbehandelten Patienten eine ORR von über 60 % mit einem PFS von 9,7 Monaten erreichte. Eine Aussage zum OS sowie ein direkter Vergleich zur Chemotherapie fehlt. Die Kombinationstherapie aus Dabrafenib und Trametinib stellt jedoch aufgrund ihrer Wirksamkeitsdaten eine wichtige Therapieoption beim BRAF p.V600E mutierten NSCLC dar und sollte in der Erstlinie bevorzugt eingesetzt werden. An unerwünschten Arzneimittelwirkungen ist das vermehrte Auftreten von Plattenepithelkarzinomen hervorzuheben [34].

Weitere Alterationen mit Treiberfunktion: MET, RET, NTRK und andere

Analog Tabelle 1 sind in den vergangenen Jahren weitere Treibermutationen ausfindig gemacht worden. Eine zielgerichtete Therapie hat in Fallserien oder prospektiven Studien der verschiedenen Mutationen mitunter hoffnungsvolle Ergebnisse geliefert. Zugelassene TKI existieren bisher nicht, mitunter ist der off-label Einsatz bereits zugelassener Substanzen jedoch eine sinnvolle Option, die im Einzelfall abgewägt werden muss:

Veränderungen des MET-Genes wurden initial als erworbener Resistenzmechanismus nach Gefitinib-Therapie ausgemacht. Die MET Exon14 Skipping-Alterationen und MET-Amplifikationen finden sich in ca. 2–4 % der Adenokarzinome der Lunge und in 1–2 % der Plattenepithelkarzinome der Lunge. MET-Alterationen können schon a

Multiple Choice-Fragen

Die Multiple Choice-Fragen zum Artikel „Molekulare Diagnostik und Differenzialtherapie des fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms mit Treibermutationen“ von Dr. med. Jan A. Stratmann et al. finden Sie im Mitglieder-Portal der Landesärztekammer Hessen (<https://portal.laekh.de>) sowie auf den Online-Seiten des Hessischen Ärzteblattes (www.laekh.de). Die Teilnahme zur Erlangung von Fortbildungspunkten ist ausschließlich online über das Mitglie-

der-Portal vom 25.09.2019 bis 24.09.2020 möglich.

Die Fortbildung ist mit zwei Punkten zertifiziert. Mit Absenden des Fragebogens bestätigen Sie, dass Sie dieses CME-Modul nicht bereits an anderer Stelle absolviert haben.

Dieser Artikel hat ein Peer-Review-Verfahren durchlaufen. Laut der Autoren sind die Inhalte des Artikels produkt- und/oder dienstleistungsneutral, es bestehen keine Interessenkonflikte.

priori als Ko-Mutation bei den EGFR- (auch KRAS, HER2 und BRAF-)mutierten NSCLC vorkommen. Der MET-Rezeptor zeigt eine Strukturhomologie mit ROS1 und ALK, sodass auch hier Crizotinib einen wirksamen Inhibitor (im off-label use) darstellt. Zielgerichtete Wirkstoffe, darunter das Capmatinib sind in der klinischen Entwicklung weit fortgeschritten und werden vermutlich den Weg in die Zulassung finden [35]. Erste gesammelte Daten zur zielgerichteten Therapie bei RET-Genumlagerung, einer in ca. 1 % aller NSCLCs vorkommenden Alteration, wurden 2017 aus dem globalen RET-Register veröffentlicht [36]. Manche Multikinaseinhibitoren haben eine RET-inhibierende Wirkung, darunter vor allem Cabozantinib, Vandetanib und Sunitinib. Das Tumoransprechen auf diese Inhibitoren war jedoch mit 18–37 % schlechter als erhofft. Modernere selektive Inhibitoren befinden sich in der klinischen Entwicklung [37]. Ebenso verhält es sich mit den seltenen NTRK-Alterationen, für die seitens der FDA (U. S. Food and Drug Administration) bereits eine zugelassene Therapie mit dem Wirkstoff La-

rotrectinib verfügbar ist. Die Zulassung ist bei der EMA eingereicht. Weitere Treibermutationen in Genen wie FGFR1–4 und NRG1 könnten in naher Zukunft an Bedeutung gewinnen. In Anbetracht der Dynamik bei der Entdeckung von Treibermutationen und der damit einhergehenden Entwicklung von zielgerichteten Therapien ist langfristig mit einer weiteren Diversifizierung des klinisch relevanten Mutationsspektrums bei Patienten mit NSCLC zu rechnen. Um dem notwendigen medizinischen Erkenntnisgewinn gerecht zu werden, ist ein konsequenter Einschluss von Patienten (mit möglicherweise seltenen Treibermutationen) in klinische Studien unabdingbar.

Dr. med. Jan A. Stratmann

Medizinische Klinik 2, Hämatologie und Onkologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Dr. med. Verena Tischler

Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Dr. rer. physiol Melanie Temes

Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Prof. Dr. med. Hubert Serve

Medizinische Klinik 2, Hämatologie und Onkologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Prof. Dr. med. Peter Wild

Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Dr. med. Martin Sebastian

Medizinische Klinik 2, Hämatologie und Onkologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Die Literaturhinweise finden Sie auf unserer Website www.laekh.de unter der Rubrik „Hessisches Ärzteblatt“, Ausgabe 10/2019.

Multiple Choice-Fragen:

Molekulare Diagnostik und Differenzialtherapie des fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms mit Treibermutationen

VNR: 2760602019282270007

(nur eine Antwort ist richtig)

1. Welche molekularen und biologischen Alterationen (Mutations-/Translokationsanalysen und Genexpression mittels Immunhistochemie) sollen nach den aktuellen Leitlinien zum nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom obligat am Tumorgewebe getestet werden?

- 1) KRAS, EGFR, BCR-ABL, KIT.
- 2) KRAS, BRAF, Mikrosatelliteninstabilität, BRCA.
- 3) EGFR, BRAF, ALK, ROS1, PD-L1.
- 4) NRAS, BRAF, PD-L1.

2. Welche Aussage ist richtig?

- 1) Zur Testung prädiktiver Marker beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom ist Gewebe, zytologisches Probenmaterial und je nach Fragestellung Blut geeignet.
- 2) Eine prädiktive Testung beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom ist nach Leitlinien nicht indiziert.
- 3) Eine prädiktive Testung beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom sollte am Atemtest erfolgen.
- 4) Besonders gut geeignetes Probenmaterial zur prädiktiven Testung beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom ist Urin.

3. Welche Aussage ist falsch?

- 1) Eine Testung auf prädiktive Marker ist vor allem im limitierten Stadium sinnvoll.
- 2) Die Kombination von „Liquid Biopsy“ und Gewebsbiopsie kann die Sensitivität für den Nachweis einzelner Mutationen erhöhen.
- 3) Bei der „Liquid Biopsy“ können im Blut zirkulierende Tumor DNA oder zirkulierende Tumorzellen auf genetische Veränderungen untersucht werden.
- 4) Betroffene Patienten sollten über das mögliche Auftreten von „Varianten unklarer Signifikanz“ – genetische Verän-

derungen ohne bekannte klinische Bedeutung – vor Einleitung der Diagnostik aufgeklärt werden.

4. Welche Aussage zur EGFR Treibermutationen beim NSCLC ist korrekt?

- 1) Die EGFR Treibermutationen findet sich vor allem bei Patienten, die nie oder wenig geraucht haben.
- 2) Die EGFR TKI Therapie muss parenteral appliziert werden.
- 3) EGFR TKIs sollten immer mit einem Kombinationspartner, wie zum Beispiel Pemetrexed appliziert werden.
- 4) EGFR TKIs haben unabhängig des Nachweises einer Treibermutation im EGFR Gen eine hohe Wirksamkeit.

5. Welche Antwort zum EGFR mutierten NSCLC ist richtig?

- 1) Die EGFR TKI Therapie hat ein hohes kuratives Potential.
- 2) Das progressionsfreie Überleben ist unter Chemotherapie (im Vergleich zur TKI Therapie) zwar deutlich länger, das Nebenwirkungsspektrum ist jedoch vergleichbar.
- 3) Bei Progress nach Erst- oder Zweitgenerations TKI kann praktisch nie eine Anschlusstherapie mit einer zielgerichteten Substanz erfolgen.
- 4) Osimertinib eignet sich aufgrund des günstigen Nebenwirkungsspektrums insbesondere für Patienten mit schlechterem Performance-Status in der Erstlinie.

6. Welche Aussage zur ALK Translokation ist korrekt?

- 1) Patienten mit ALK Translokationen finden sich praktisch nur bei Rauchern.
- 2) Es steht zur Therapie lediglich ein ALK TKI zur Verfügung.

3) Die Immuntherapie spielt bei NSCLCs mit Treibermutationen aufgrund der limitierten Wirksamkeit derzeit eine untergeordnete Rolle.

4) Hirnmetastasen treten bei Therapie mit Crizotinib praktisch nie auf.

7. Welche Aussage zur Resistenzentwicklung unter EGFR und ALK Inhibitoren ist zutreffend?

- 1) Der Nachweis von Resistenzmechanismen spielt bei der TKI Therapie keine Rolle im Alltag, da praktisch keine identifiziert werden können.
- 2) Der Nachweis einer spezifischen Resistenzmutation (z. B. EGFR p.T790M) stellt eine Grundlage zum Therapieentscheid für die Folgelinie dar.
- 3) Bei fehlendem Nachweis einer Resistenzmutation nach EGFR TKI Vorbehandlung bietet sich optimalerweise der Einsatz des Drittgenerations EGFR TKI Osimertinib an.
- 4) Aufgrund des hohen Materialbedarfs für die Resistenztestung ist zumeist ein operativer Eingriff von Nöten.

8. Welche Aussage zur Therapie seltener Alterationen beim NSCLC ist richtig?

- 1) ROS1 Alterationen wurden zwar bei NSCLC Patienten beschrieben, eine Wirkweise als Treibermutation ist jedoch nicht nachgewiesen.
- 2) ROS1 Alterationen können mit EGFR TKIs behandelt werden.
- 3) Die BRAF p.V600E Mutation ist eine der häufigsten Mutationen beim NSCLC.
- 4) Die BRAF p.V600E Mutation kann mit einer Medikamentenkombination als zielgerichtete Therapie behandelt werden.

9. Welche Aussage zur Therapie von Treibermutationen beim NSCLC ist falsch?

- 1) Eine wichtige Nebenwirkung der EGFR TKIs ist das Vorkommen von Haut und Schleimhauttoxizität.
- 2) Das vermehrte Auftreten von kutanen Plattenepithelkarzinomen ist eine wichtige Nebenwirkung der zielgerichteten Therapie bei BRAF p.V600E Mutation.
- 3) In Zukunft werden weitere Treibermutationen (z. B. in NRG1 oder FGFR1–4) wahrscheinlich eine wichtige Rolle beim NSCLC spielen.

4) Aufgrund multipler, bereits etablierter Therapiekonzepte beim NSCLC ist der Einschluss in Therapiestudien von nachrangiger Bedeutung.

10. Welche Aussage zur Mutationsdiagnostik ist korrekt?

- 1) Die Molekulardiagnostik ist eine einfache und sehr kostengünstige Methode mit kurzer Bearbeitungszeit (1 Tag).
- 2) Die Molekulardiagnostik zur Identifizierung von Treibermutationen hat eine Sensitivität von 100 % für alle Alterationen mit zugelassenen Therapieoptionen.

3) Eine Testung ist seitens der Leitlinie generell nicht vorgesehen.

4) Epidemiologisch ist das Vorkommen von Treibermutationen vor allem bei jüngeren Nichtraucher zu erwarten. Eine Testung sollte jedoch nicht auf diese Subgruppe beschränkt sein.

Literatur zum Artikel:

Molekulare Diagnostik und Differenzialtherapie des fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms mit Treibermutationen

von Dr. med. Jan A. Stratmann, Dr. med. Verena Tischler, Dr. rer. physiol Melanie Demes, Prof. Dr. med. Hubert Serve, Prof. Dr. med. Peter Wild und Dr. med. Martin Sebastian

- [1] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, Zhu J, Johnson DH. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002; 346: 92–8.
- [2] Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2787–99.
- [3] Miller VA, Kris MG, Shah N, Patel J, Azzoli C, Gomez J, Krug LM, Pao W, Rizvi N, Pizzo B, Tyson L, Venkatraman E, Ben-Porat L, Memoli N, Zakowski M, Rusch V, Heelan RT. Bronchioloalveolar pathologic subtype and smoking history predict sensitivity to gefitinib in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1103–9.
- [4] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350: 2129–39.
- [5] Griesinger F, Hipper A, Fleitz A, Sahlmann J. CRISP – clinical research platform into molecular testing, treatment and outcome of non-small cell lung cancer: Interim analysis 2016, 2016.
- [6] Onkologie L. S3-Leitlinie Lungenkarzinom.
- [7] Velizheva NP, Rechsteiner MP, Wong CE, Zhong Q, Rössle M, Bode B, Moch H, Soltermann A, Wild PJ, Tischler V. Cytology smears as excellent starting material for next-generation sequencing-based molecular testing of patients with adenocarcinoma of the lung. *Cancer Cytopathol* 2017; 125: 30–40.
- [8] Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, Colasacco C, Dacic S, Hirsch FR, Kerr K, Kwiatkowski DJ, Ladanyi M, Nowak JA, Sholl L, Temple-Smolkin R, Solomon B, Souter LH, Thunnissen E, Tsao MS, Ventura CB et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2018; 142: 321–46.
- [9] Esposito A, Criscitiello C, Trapani D, Curigliano G. The Emerging Role of „Liquid Biopsies,“ Circulating Tumor Cells, and Circulating Cell-Free Tumor DNA in Lung Cancer Diagnosis and Identification of Resistance Mutations. *Curr Oncol Rep* 2017; 19: 1.
- [10] Wild P (2018) Molekularpathologische Untersuchungen in zirkulierender Tumor-DNA am Beispiel der EGFR-p.T790M -Mutation beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom. <https://www.trillium.de/zeitschriften/trillium-krebsmedizin/2018/heft-82018/diagnostik-in-der-pathologie/molekularpathologische-untersuchungen-in-zirkulierender-tumor-dna-am-beispiel-der-egfr-pt790m-mutation-beim-nicht-kleinzelligen-lungenkarzinom.html>
- [11] Velizheva NP, Rechsteiner MP, Valtcheva N, Freiburger SN, Wong CE, Vrugt B, Zhong Q, Wagner U, Moch H, Hillinger S, Schmitt-Opitz I, Soltermann A, Wild PJ, Tischler V. Targeted next-generation sequencing for reliable detection of targetable rearrangements in lung adenocarcinoma—a single center retrospective study. *Pathol Res Pract* 2018; 214: 572–8.
- [12] Meyerson M, Gabriel S, Getz G. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 685–96.
- [13] Zhou C, Wu YL, Chen G, Feng J, Liu X-Q, Wang C, Zhang S, Wang J, Zhou S, Ren S, Lu S, Zhang L, Hu C, Luo Y, Chen L, Ye M, Huang J, Zhi X, Zhang Y, Xiu Q et al. Final overall survival results from a randomised, phase III study of erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802). *Ann Oncol* 2015; 26: 1877–83.
- [14] Yang JC-H, Wu YL, Schuler M, Sebastian M, Popat S, Yamamoto N, Zhou C, Hu C-P, O’Byrne K, Feng J, Lu S, Huang Y, Geater SL, Lee KY, Tsai C-M, Gorbunova V, Hirsh V, Ben-nouna J, Orlov S, Mok T et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy

- for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): Analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *The Lancet Oncology* 2015; 16: 141–51.
- [15] Mok TS, Cheng Y, Zhou X, Lee KH, Nakagawa K, Niho S, Lee M, Linke R, Rosell R, Corral J, Migliorino MR, Pluzanski A, Sbar EI, Wang T, White JL, Wu YL. Improvement in Overall Survival in a Randomized Study That Compared Dacomitinib With Gefitinib in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer and EGFR-Activating Mutations. *J Clin Oncol* 2018; 36: 2244–50.
- [16] Wu YL, Cheng Y, Zhou X, Lee KH, Nakagawa K, Niho S, Tsuji F, Linke R, Rosell R, Corral J, Migliorino MR, Pluzanski A, Sbar EI, Wang T, White JL, Nandanaciva S, Sandin R, Mok TS. Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR -mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): A randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 2017; 18: 1454–66.
- [17] Soria J-C, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, Dechaphunkul A, Imamura F, Nogami N, Kurata T, Okamoto I, Zhou C, Cho BC, Cheng Y, Cho EK, Voon PJ, Planchard D, Su W-C, Gray JE, Lee S-M et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2018; 378: 113–25.
- [18] Stratmann JA, Michels S, Hornetz S, Christoph DC, Sackmann S, Spengler W, Bischoff H, Schäfer M, Alt J, Müller A, Laack E, Kimmich M, Griesinger F, Sebastian M. Efficacy and safety analysis of the German expanded access program of osimertinib in patients with advanced, T790M-positive non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2018; 144: 2457–63.
- [19] Gridelli C, Rossi A, Ciardiello F, Marinis F de, Crinò L, Morabito A, Morgillo F, Montanino A, Daniele G, Piccirillo MC, Normanno N, Gallo C, Perrone F. BEVERLY: Rationale and Design of a Randomized Open-Label Phase III Trial Comparing Bevacizumab Plus Erlotinib Versus Erlotinib Alone as First-Line Treatment of Patients With EGFR-Mutated Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 2016; 17: 461–5.
- [20] Seto T, Kato T, Nishio M, Goto K, Atagi S, Hosomi Y, Yamamoto N, Hida T, Maemondo M, Nakagawa K, Nagase S, Okamoto I, Yamanaka T, Tajima K, Harada R, Fukuoka M, Yamamoto N. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): An open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. *The Lancet Oncology* 2014; 15: 1236–44.
- [21] Mok TS, Wu YL, Ahn M-J, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, Shepherd FA, He Y, Akamatsu H, Theelen WSME, Lee CK, Sebastian M, Templeton A, Mann H, Marotti M, Ghiorghiu S, Papadimitrakopoulou VA. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017; 376: 629–40.
- [22] Chabon JJ, Simmons AD, Lovejoy AF, Esfahani MS, Newman AM, Haringsma HJ, Kurtz DM, Stehr H, Scherer F, Karlovich CA, Harding TC, Durkin KA, Otterson GA, Purcell WT, Camidge DR, Goldman JW, Sequist LV, Piotrowska Z, Wakelee HA, Neal JW et al. Circulating tumour DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanisms in lung cancer patients. *Nat Commun* 2016; 7: 11815.
- [23] Ko R, Kenmotsu H, Serizawa M, Koh Y, Wakuda K, Ono A, Taira T, Naito T, Murakami H, Isaka M, Endo M, Nakajima T, Ohde Y, Yamamoto N, Takahashi K, Takahashi T. Frequency of EGFR T790M mutation and multimutational profiles of rebiopsy samples from non-small cell lung cancer developing acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in Japanese patients. *BMC Cancer* 2016; 16: 864.
- [24] Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, Rodríguez-Abreu D, Moro-Sibilot D, Thomas CA, Barlesi F, Finley G, Kelsch C, Lee A, Coleman S, Deng Y, Shen Y, Kowanetz M, Lopez-Chavez A, Sandler A, Reck M. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med* 2018; 378: 2288–301.
- [25] Solomon BJ, Mok T, Kim D-W, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, Felip E, Cappuzzo F, Paolini J, Usari T, Iyer S, Reisman A, Wilner KD, Tursi J, Blackhall F. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK -Positive Lung Cancer. *N Engl J Med* 2014; 371: 2167–77.
- [26] Solomon BJ, Kim D-W, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, Felip E, Cappuzzo F, Paolini J, Usari T, Tang Y, Wilner KD, Blackhall F, Mok TS. Final Overall Survival Analysis From a Study Comparing First-Line Crizotinib Versus Chemotherapy in ALK-Mutation-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36: 2251–8.
- [27] Hida T, Nokihara H, Kondo M, Kim YH, Azuma K, Seto T, Takiguchi Y, Nishio M, Yoshioka H, Imamura F, Hotta K, Watanabe S, Goto K, Satouchi M, Kozuki T, Shukuya T, Nakagawa K, Mitsudomi T, Yamamoto N, Asakawa T et al. Alectinib versus crizotinib in patients with ALK -positive non-small-cell lung cancer (J-ALEX): An open-label, randomised phase 3 trial. *The Lancet* 2017; 390: 29–39.
- [28] Peters S, Camidge DR, Shaw AT, Gadgeel S, Ahn JS, Kim D-W, Ou S-HI, Pérol M, Dziadziuszko R, Rosell R, Zeaiter A, Mitry E, Golding S, Balas B, Noe J, Morcos PN, Mok T. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017.
- [29] Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, Friboulet L, Shaw AT. Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer, 2016.

- [30] Shaw AT, Ou S-HI, Bang Y-J, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, Riely GJ, Varella-Garcia M, Shapiro GI, Costa DB, Doebele RC, Le LP, Zheng Z, Tan W, Stephenson P, Shreeve SM, Tye LM, Christensen JG, Wilner KD, Clark JW et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 371: 1963–71.
- [31] Katayama R, Kobayashi Y, Friboulet L, Lockerman EL, Koike S, Shaw AT, Engelman JA, Fujita N. Cabozantinib overcomes crizotinib resistance in ROS1 fusion-positive cancer. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 166–74.
- [32] Lim SM, Kim HR, Lee J-S, Lee KH, Lee Y-G, Min YJ, Cho EK, Lee SS, Kim B-S, Choi MY, Shim HS, Chung J-H, La Choi Y, Lee MJ, Kim M, Kim J-H, Ali SM, Ahn M-J, Cho BC. Open-Label, Multicenter, Phase II Study of Ceritinib in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring ROS1 Rearrangement. *J Clin Oncol* 2017; 35: 2613–8.
- [33] Shaw AT, Felip E, Bauer TM, Besse B, Navarro A, Postel-Vinay S, Gainor JF, Johnson M, Dietrich J, James LP, Clancy JS, Chen J, Martini J-F, Abbattista A, Solomon BJ. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: An international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial. *The Lancet Oncology* 2017; 18: 1590–9.
- [34] Planchard D, Kim TM, Mazieres J, Quoix E, Riely G, Barlesi F, Souquet P-J, Smit EF, Groen HJM, Kelly RJ, Cho BC, Socinski MA, Pandite L, Nase C, Ma B, D'Amelio A, Mookerjee B, Curtis CM, Johnson BE. Dabrafenib in patients with BRAFV600E-positive advanced non-small-cell lung cancer: A single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* 2016; 17: 642–50.
- [35] *J Clin Oncol* 34, 2016 (suppl; abstr 9067).
- [36] Gautschi O, Milia J, Filleron T, Wolf J, Carbone DP, Owen D, Camidge R, Narayanan V, Doebele RC, Besse B, Remon-Masip J, Janne PA, Awad MM, Peled N, Byoung C-C, Karp DD, van den Heuvel M, Wakelee HA, Neal JW, Mok TSK et al. Targeting RET in Patients With RET-Rearranged Lung Cancers: Results From the Global, Multicenter RET Registry. *J Clin Oncol* 2017; 35: 1403–10.
- [37] *J Clin Oncol* 36, 2018 (suppl; abstr 102).